

## АСЕПТИЧЕСКОЕ ВВЕДЕНИЕ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

**Т.Р. Батура, 3 курс, И.О. Беда, мл. научный сотрудник**

**Научный руководитель – Н.В. Водчиц, заведующий отраслевой лабораторией ДНК**

**и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве**

**Полесский государственный университет**

**Введение.** Виноград – одна из старейших и наиболее экономически значимых многолетних плодово-ягодных культур в мировой сельскохозяйственной практике [1]. Виноград содержит натуральные вещества, обладающие высокой антиоксидантной активностью и радиопротекторными свойствами [2]. Последствия изменения климата в Беларуси: теплые зимы, раннее наступление весенних процессов, увеличение продолжительности и теплообеспеченности вегетационного периода оказывают существенное влияние на адаптацию винограда [3].

Черенкование – вегетативный способ размножения, при котором новое растение образуется из части побега.[4]. Рядовые растения винограда зачастую инфицированы различными вирусными и фитоплазменными заболеваниями [10] Поэтому в настоящее время идет разработка биотехнологических методов, которые позволяют получить посадочный материал, свободный от вредителей и болезней. Одним из них является метод культуры апикальных меристем с последующим клональным микроразмножением [1].

Цель исследований: подбор оптимальной питательной среды для асептического введения винограда в культуру *in vitro*.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проводились на базе отраслевой лаборатории «ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве» биотехнологического факультета УО «Полесский государственный университет». В качестве объекта исследований использовали экспланты винограда сорт Бианка с 1 междоузлем в количестве 48 штук.

Для ввода стерильных эксплантов в культуру *in vitro* были использованы растворы фунгицидов Ридомил Голд и Байтан – по 200 мг на 100 мл раствора с добавлением 2 мг аскорбиновой кислоты и 300 мкл Tween 20 из расчета на 100 мл раствора (время экспозиции 18 мин.) и стерилизующий агент 7,5% раствор гипохлорита натрия (время экспозиции 25 мин.).

После стерилизации и отмывки экспланты высаживали на стандартную среду Мурасиге-Скуга (MS) и MS с добавлением Na. Каждая из этих сред была взята в трех вариантах: в присутствии

гормона 6-бензиламинопурина (БАП) в концентрации 0,5 мг/л, в концентрации 1,0 мг/л и без добавления гормона. Высадку в среду осуществляли по одному экспланту в пробирку.

Экспланты культивировали на стеллажах световой установки при температуре +25°C и освещении 4000 люкс при 16-ти часовом фотопериоде.

По истечении 7 и 14 дней проводили замеры количества образовавшихся побегов и междоузлий.

**Результаты и их обсуждение.** Сегодня общая технология размножения винограда *in vitro* известна и включает следующие этапы: отбор и стерилизацию первичных эксплантов; введение эксплантов в культуру *in vitro*; пролиферацию почек и индукцию развития побегов; укоренение микрочеренков на питательных средах и субстратах; адаптацию микрорастений из условий *in vitro* к условиям *in vivo*; доращивание саженцев до стандарта.

Обязательным условием введения исходного материала в культуру *in vitro* является его стерилизация. Растительные экспланты, как правило, стерилизуют растворами веществ, содержащими активный хлор (хлорамином, гипохлоритом Са и Na, сулемой); перманганат калия, перекись водорода, спирт, нитрат серебра, диацид, антибиотики, хинозол [1]. В нашем случае мы проводили стерилизацию растворами фунгицидов и гипохлоритом натрия, так как опыты предыдущих исследований показали, что данным методом образуется наибольшее количество здорового посадочного материала у разных культур [6]. Выход стерильных жизнеспособных растений составил 100%.

На следующем этапе очень важно подобрать оптимальный состав питательной среды. Так, для проращивания эксплантов винограда в культуре *in vitro*, в литературных источниках рекомендуется использовать среду MS, а также MS с добавлением Na [2].

Мурасиге-Скуга – среда содержащая хорошо сбалансированный состав питательных веществ и отличается от других соотношением аммонийного и нитратного азота [7].

Очень часто в среды добавляют гормоны цитокинины, так как они играют важную роль в процессах роста, развития и адаптации растений [8].

В ходе исследований проводилась оценка эффективности (по приживаемости и степени развития) применения сред на этапе введения эксплантов винограда в культуру *in vitro*. Самый низкий показатель был выявлен на стандартной среде MS без добавления гормона (таблица 1).

Таблица 1. – Количество образовавшихся побегов и междоузлий в зависимости от питательной среды и концентрации гормона

Среда	Концентрация гормона	Количество образовавшихся междоузлий		Количество образовавшихся побегов	
		7 дней	14 дней	7 дней	14 дней
MS стандартная	0 мг/л	1	2	0	1
	0,5 мг/л	2	4	0	4
	1 мг/л	2	2	0	2
MS с добавлением Na	0 мг/л	1	3	0	2
	0,5 мг/л	1	3	0	3
	1 мг/л	2	5	0	5

Лучший рост эксплантов наблюдался на стандартной среде MS в присутствии БАП с концентрацией 0,5 мг/л, а так же на среде MS с добавлением Na в присутствии БАП в концентрации 1,0 мг/л (таблица 1).

**Заключение.** Используя методику стерилизации с применением фунгицидов и раствора гипохлорита натрия, нам удалось получить оздоровленные экспланты винограда с выходом 100%.

Так же в ходе проведенных исследований мы выявили, что целесообразно использовать питательную среду MS стандартную в присутствии гормона 6 БАП с концентрацией 0,5 мг/л, и MS с добавлением Na в присутствии гормона 6 БАП с концентрацией 1,0 мг/л.

### Список использованных источников

1. Дорошенко, Н. П. Особенности микроклонального размножения интродуцентов и клонов винограда / Н. П. Дорошенко // Научный журнал КубГАУ. – 2008. – №40(6). – С. 154–172.
2. Олешук, Е. Н. Виноградарство в Беларуси: состояние и перспективы / Е. Н. Олешук // Наше сельское хозяйство. – 2013. – №7. С. 94–99.
3. Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://minpriroda.gov.by/uploads/files/Agroklimaticheskoe-zonirovanie-Respubliki-Belarus.pdf>. – Дата доступа: 05.03.200
4. Аладина, О. Н. Оптимизация технологии зеленого черенкования садовых растений / О. Н. Аладина // Известия ТСХА. – 2013. – №4. С. 5–23.
5. Кудряшова, О. А. Физиолого-биохимические особенности действия брассиностероидов на процессы микроклонального размножения голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L. : дис. ... канд. биол. наук : 03.01.05. / О.А. Кудряшова. – Минск, 2015. – 175 л.
6. Тимофеева, С. Н. Технологии микроразмножения *in vitro* : учеб. пособие / С. Н. Тимофеева, Ю. В. Смолькина. – Саратов : Саратовский гос. ун-т, 2016. – 16 с.
7. Ломин, С. Н. Свойства рецепторов и особенности сигнала цитокининов / С. Н. Ломин, Д. М. Кривошеев, М. Ю. Стеклов. // Acta Naturae. – 2012. – №3. С. 34–48.
8. Бунцевич, Л. Л. Введение новых сортов винограда в культуру *in vitro* / Л. Л. Бунцевич. // Научный журнал КубГАУ. – 2016. – №123(09). – С. 339–346.